

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2003 年 1 月 30 日 (30.01.2003)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 03/007937 A1

(51) 国際特許分類⁷: A61K 31/335, 31/765, A61P 35/00 // C07D 323/00, C08G 63/06

(21) 国際出願番号: PCT/JP02/07258

(22) 国際出願日: 2002 年 7 月 17 日 (17.07.2002)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願2001-217719 2001 年 7 月 18 日 (18.07.2001) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 天藤製薬株式会社 (AMATO PHARMACEUTICAL PRODUCTS, LTD.) [JP/JP]; 〒620-0932 京都府 福知山市 笹尾町 9 9 5 Kyoto (JP).

(71) 出願人 (日本についてのみ): 東海教育産業株式会社 (TOKAI EDUCATION INSTRUMENTS CO., LTD.) [JP/JP]; 〒259-1143 神奈川県 伊勢原市 下粕屋 1 6 4 Kanagawa (JP).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 渡邊 幹夫 (WATANABE, Mikio) [JP/JP]; 〒257-0002 神奈川県 秦野市 鶴巻南 5-8-2 2 0 8 Kanagawa (JP). 長戸 康和 (NAGATO, Yasukazu) [JP/JP]; 〒243-0122 神奈川県 厚木市 森の里 2-2 0-1 2 Kanagawa (JP). 村山 千恵子 (MURAYAMA, Chieko) [JP/JP]; 〒243-0431 神奈

川県 海老名市 上今泉 5-3 8-1 Kanagawa (JP). 村上 正裕 (MURAKAMI, Masahiro) [JP/JP]; 〒547-0026 大阪府 大阪市 平野区 喜連西 3-1 7-6 Osaka (JP). 高田 繁生 (TAKADA, Shigeo) [JP/JP]; 〒259-1112 神奈川県 伊勢原市 東富岡 5 1 7-2 Kanagawa (JP).

(74) 代理人: 特許業務法人特許事務所サイクス (SIKS & CO.); 〒104-0031 東京都 中央区 京橋一丁目 8 番 7 号 京橋日産ビル 8 階 Tokyo (JP).

(81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SK, TR), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:
— 国際調査報告書

2 文字コード及び他の略語については、定期発行される各 PCT ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: ANTITUMOR AGENT CONTAINING CYCLIC POLYLACTIC ACID

(54) 発明の名称: 環状ポリ乳酸を含む抗腫瘍剤

(57) Abstract: It is intended to evaluate the antitumor effect of a polylactic acid mixture containing cyclic polylactic acid as the main component to thereby provide a novel antitumor agent. Namely, an antitumor agent containing a polylactic acid mixture which contains cyclic polylactic acid having a degree of condensation of 3 to 20 as the main component.

(57) 要約:

本発明の目的は、環状ポリ乳酸を主成分として含むポリ乳酸混合物が示す抗腫瘍作用を評価することにより、新規な抗腫瘍剤を提供することである。本発明によれば、縮合度 3 ~ 20 の環状ポリ乳酸を主成分として含むポリ乳酸混合物を含む、抗腫瘍剤が提供される。

WO 03/007937 A1

明細書

環状ポリ乳酸を含む抗腫瘍剤

技術分野

本発明は抗腫瘍剤、より詳細には、環状ポリ乳酸を主成分として含むポリ乳酸混合物を含む抗腫瘍剤に関する。本発明の抗腫瘍剤は、腫瘍縮小効果および転移抑制効果を発揮し、癌の治療に有用である。

背景技術

環状ポリ乳酸を含むポリ乳酸混合物が癌細胞の嫌氣的解糖系を抑制し、抗腫瘍効果を発揮することは、自然発癌マウスを使った発癌抑制効果と移植癌組織(ルイス肺癌細胞)を用いた腫瘍増殖と転移抑制効果を中心として検討が進められてきた(長戸ら:第56回日本癌学会総会、1997年9月;及び高田ら:第57回日本癌学会総会、1998年9月)。

ポリ乳酸混合物についてはさらに、Chemoprevention 効果、抗癌剤や放射線照射との併用効果投与方法や投与量についても検討が重ねられ、高用量投与実験からは顕著な抗腫瘍効果が認められなかった。また、これまでに用いられてきたポリ乳酸混合物には環状物以外の物質(例えば、鎖状のポリ乳酸など)が含まれていた。即ち、従来使用されてきたポリ乳酸混合物には、重合度(縮合度とも言う)の異なる環状物と鎖状物が含まれていることが明らかであり、環状物と鎖状物の割合や特定の重合度(縮合度)のオリゴマーについても定量化はなされていない。このような状況に鑑み、環状ポリ乳酸のみを選択的に合成する試みがなされてきた。

発明の開示

本発明は、環状ポリ乳酸を主成分として含むポリ乳酸混合物が示す抗腫瘍作用を評価することにより、新規な抗腫瘍剤を提供することを解決すべき課題とした。

本発明はまた、上記抗腫瘍剤を利用した飲食品を提供することを解決すべき課題とした。

本発明者らは上記課題を解決するために鋭意検討した結果、環状ポリ乳酸を主成分として含むポリ乳酸混合物（以下の実施例ではAD-3と称する）と従来の製法で製造した環状物と鎖状物を含むポリ乳酸混合物（以下の実施例ではCPLと称する）の抗腫瘍効果を比較する実験を行い、前者の有用性を確認することに成功した。特に、環状ポリ乳酸を主成分として含むポリ乳酸混合物は低用量でも十分な抗腫瘍効果を発揮できることが判明した。本発明はこれらの知見に基づいて完成したものである。

即ち、本発明によれば、縮合度3～20の環状ポリ乳酸を主成分として含むポリ乳酸混合物を含む、抗腫瘍剤が提供される。

好ましくは、本発明で用いるポリ乳酸混合物は、鎖状ポリ乳酸を実質的に含有しない。

好ましくは、縮合度3～20の環状ポリ乳酸を主成分として含むポリ乳酸混合物は、

(i) 乳酸を加熱により脱水縮合する工程であって、ラクチドの留出を回避しつつ副生水を留出除去するような圧力及び温度条件下で脱水縮合する第1加熱工程；及び

(ii) 該第1加熱工程の反応生成物を、第1加熱工程より高い温度において、ラクチドの留出を回避しつつ副生水を留出除去するような圧力及び温度条件下で圧力を100mmHg以下まで降下させ、該降下した圧力において加熱下においてさらに反応を継続して乳酸の脱水縮合物を生成させる第2加熱工程；を含む製造方法により製造されるポリ乳酸混合物である。

本発明の別の側面によれば、上記した本発明の抗腫瘍剤を含む、飲食品が提供される。

本発明のさらに別の側面によれば、抗腫瘍剤又は抗腫瘍のための飲食品の製造における、縮合度3～20の環状ポリ乳酸を主成分として含むポリ乳酸混合物の

使用が提供される。

本発明のさらに別の側面によれば、縮合度 3 ～ 20 の環状ポリ乳酸を主成分として含むポリ乳酸混合物の有効量をヒトなどの哺乳動物に投与することを含む、腫瘍を抑制するための方法が提供される。

図面の簡単な説明

図 1 は、合成例 1 で得られたポリ乳酸混合物の質量スペクトルを示す。

図 2 は、合成例 2 で得られた反応生成物の MS スペクトルを示す。

図 3 は、合成例 2 で得られた反応生成物の NMR の全体図を示す。

図 4 は、図 3 の一部分の拡大図を示す。

図 5 は、図 3 の一部分の拡大図を示す。

図 6 は、実施例 1 における腫瘍組織重量の比較を示す。

図 7 は、実施例 1 における AD-3 投与群の腫瘍組織（実質性組織・海綿状組織）重量を示す。

図 8 は、実施例 1 における AD-3 投与群の肺転移コロニー数の比較を示す。

図 9 は、実施例 2 における腫瘍組織の割合の比較を示す。

図 10 は、実施例 2 における各組織重量の比較を示す。

発明を実施するための最良の形態

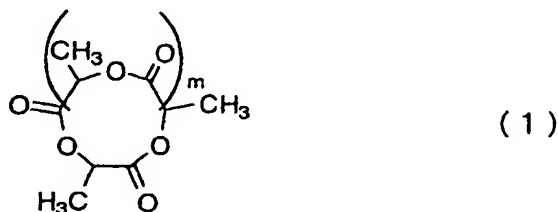
以下、本発明の実施方法及び実施態様について詳細に説明する。

本発明の抗腫瘍剤及び飲食品においては、縮合度 3 ～ 20 の環状ポリ乳酸を主成分として含むポリ乳酸混合物が有効成分として用いられる。

本明細書で言う「ポリ乳酸混合物」とは、縮合度 3 ～ 20 の環状ポリ乳酸が任意の割合で存在する混合物を意味する。なお、本明細書では便宜上「ポリ乳酸混合物」という用語を用いたが、この中には一定の縮合度を有する環状ポリ乳酸の単一成分から成るポリ乳酸も含まれる。

縮合度とは、ポリ乳酸中における反復単位である乳酸単位の数意味する。例

えば、環状のポリ乳酸は下記の構造式を有することが推測されるが、式中の m が1である場合は縮合度は3であり、 m が18である場合は縮合度は20となる。



(式中、 m は1～18の整数を示す)

本明細書で単に「乳酸」と称する場合、この乳酸にはL-乳酸、D-乳酸またはこれらの任意の割合の混合物の全てが包含される。本発明においては好ましくは、乳酸は実質的にL-乳酸から成る。ここで言う「実質的に」とは、ポリ乳酸混合物中におけるL-乳酸単位の比率[即ち、 $(\text{L-乳酸単位数} / \text{L-乳酸単位数} + \text{D-乳酸単位数}) \times 100$]が、例えば70%以上、好ましくは80%以上、より好ましくは85%以上、さらに好ましくは90%以上、特に好ましくは95%以上であることを意味する。なお、ポリ乳酸混合物中におけるL-乳酸単位の比率は、出発物質として使用する乳酸中に存在するL-乳酸とD-乳酸の比率に依存する。

本発明の抗腫瘍剤は腫瘍の抑制のために広く使用することができる。腫瘍の抑制とはより具体的には、腫瘍発生の防止、腫瘍増大の抑制、腫瘍の退縮、並びに腫瘍の転移の抑制などが含まれ、臨床的には癌及び／又は腫瘍の予防及び／又は治療の全てを包含することを意味する。

本発明の抗腫瘍剤を用いることができる癌の種類は特には限定されず、良性腫瘍及び悪性腫瘍の全てを包含する。癌の具体例としては、悪性黒色腫、悪性リンパ腫、消化器癌、肺癌、食道癌、胃癌、大腸癌、直腸癌、結腸癌、尿管腫瘍、胆嚢癌、胆管癌、胆道癌、乳癌、肝臓癌、膵臓癌、睾丸腫瘍、上顎癌、舌癌、口唇癌、口腔癌、咽頭癌、喉頭癌、卵巣癌、子宮癌、前立腺癌、甲状腺癌、脳腫瘍、カポジ肉腫、血管腫、白血病、真性多血症、神経芽腫、網膜芽腫、骨髄腫、膀胱

腫、肉腫、骨肉腫、筋肉腫、皮膚癌、基底細胞癌、皮膚付属器癌、皮膚転移癌、皮膚黒色腫などが挙げられるが、これらに限定されるものではない。

(A) 本発明で用いるポリ乳酸混合物の製造方法

本発明の抗腫瘍剤は、縮合度 3 ～ 20 の環状ポリ乳酸を主成分として含むポリ乳酸混合物を有効成分として含む。

(A-1) 第 1 の製造方法

本発明で用いるポリ乳酸混合物の製造方法の第 1 の方法としては、

(i) 乳酸を加熱により脱水縮合する工程であって、ラクチドの留出を回避しつつ副生水を留出除去するような圧力及び温度条件下で脱水縮合する第 1 加熱工程；及び

(ii) 該第 1 加熱工程の反応生成物を、第 1 加熱工程より高い温度において、ラクチドの留出を回避しつつ副生水を留出除去するような圧力及び温度条件下で圧力を 100 mmHg 以下まで降下させ、該降下した圧力において加熱下においてさらに反応を継続して乳酸の脱水縮合物を生成させる第 2 加熱工程、を含む方法が挙げられる。

本発明で用いる原料乳酸には、D-乳酸、L-乳酸及びDL-乳酸の何れでもよく、これらを単独で用いても 2 種以上を組み合わせ用いてもよい。

第 1 加熱工程は、乳酸を加熱により脱水縮合する工程であって、ラクチドの留出を回避しつつ副生水を留出除去するような圧力及び温度条件下で脱水縮合する工程である。この第 1 加熱工程の反応は、その反応を円滑に進行させるために、乳酸の脱水縮合により生成する副生水を留去させるが、この場合、乳酸 2 分子の脱水縮合物であるラクチドの留去を回避するように圧力及び温度を設定する。

反応圧力は常圧でも減圧でもよく、好ましくは減圧である。反応圧力は具体的には 10 ～ 760 mmHg、好ましくは 300 ～ 500 mmHg、より好ましくは 350 ～ 400 mmHg である。また、反応温度は圧力条件にもよるが、通常は 100℃ から 150℃、好ましくは 120 ～ 140℃ の範囲内である。

第1加熱工程の反応時間は特に限定されないが、通常、3～12時間、好ましくは5～6時間である。

第1加熱工程の反応により、3～23分子の乳酸の脱水縮合物を主成分とする反応生成物が生成する。

前記第1加熱工程の終了後、第2加熱工程において、高められた平均重合度のオリゴマーが得られるように、前記第1加熱工程における反応温度よりも高められた温度、例えば、145℃以上、好ましくは150℃～180℃、より好ましくは150～160℃の温度に加熱するとともに、反応圧力を100mmHg以下、好ましくは10～80mmHg、より好ましくは15～20mmHgの圧力に降下させて、さらに脱水縮合反応を継続する。

この反応も、前記第1加熱工程の反応の場合と同様に、反応を円滑に進行させるために副生水を留去させるが、ラクチドの留去を回避するような条件で実施する。

反応圧力を前記範囲（即ち、100mmHg以下）の圧力にまで降下させる速度（降圧速度）は、ラクチドの留出を回避し、且つ反応効率を高めるには、5mmHg/分未満に維持することが必要である。降圧速度は好ましくは0.25mmHg/分以上5mmHg/分未満であり、より好ましくは0.25mmHg/分以上4mmHg/分以下、さらに好ましくは0.5mmHg/分以上3mmHg/分以下、特に好ましくは0.5mmHg/分以上1mmHg/分以下の範囲である。前記範囲より低い降圧速度では、その所定圧まで降圧させるのに必要な時間が長くなるため好ましくなく、5mmHg/分以上の降圧速度では、ラクチドが副生水とともに留去するようになるので好ましくない。

反応圧力が100mmHg以下の圧力まで降下した後、この反応圧力において、さらに反応を継続する。この場合の反応時間は、3～12時間、好ましくは5～6時間である。

前記第2加熱工程での反応により、平均重合度が3～30、好ましくは3～23の乳酸オリゴマーが得られる。第2加熱工程の反応生成物中の全乳酸オリゴマ

一に対する環状乳酸オリゴマーの割合は通常、70重量%以上であり、例えば、70～80重量%程度である。

好ましくは、前記の第2加熱工程の終了後に、第3加熱工程を実施する。第3加熱工程は、第2加熱工程の反応生成物を該第2加熱工程よりさらに低い圧力下で加熱することにより反応生成物中の鎖状乳酸オリゴマーを環化して環状乳酸オリゴマーを生成させる工程である。

第3加熱工程の反応圧力は、好ましくは0.1～5mmHg、より好ましくは0.25～5mmHg、さらに好ましくは0.5～3mmHg、特に好ましくは0.5～1mmHgである。第3加熱工程の反応温度は好ましくは145～180℃であり、より好ましくは150～160℃である。

このような圧力及び温度条件下で反応を継続する。反応時間は3～12時間、好ましくは5～6時間である。この場合に生じる副生水も留去させる。この場合、ラクチドの留去も回避させることが好ましいが、反応生成物にはラクチドは殆んど含まれないので、その降圧速度を格別遅くする必要はない。

第3加熱工程での反応により、平均重合度3～30、好ましくは3～23の環状乳酸オリゴマーが生成される。第3加熱工程の反応生成物中の全乳酸オリゴマーに対する環状乳酸オリゴマーの割合は通常、90重量%以上であり、好ましくは99重量%以上である。

(A-2) 第2の製造方法

本発明で用いるポリ乳酸混合物の製造方法の第2の方法としては、ラクチドを下記一般式(2)：



(式中、Rは脂肪族基、芳香族基、 $-Si(R^{10})(R^{11})(R^{12})$ 、 $-CH(R^{20})CONR^{21}R^{22}$ 、又は $-CH(R^{30})COOR^{31}$ を示し、ここで R^{10} 、 R^{11} 及び R^{12} は各々独立に脂肪族基又は芳香族基を示し、 R^{20} は脂肪族基を示し、 R^{21} 及び R^{22} は各々独立に水素原子、脂肪族基又は芳香族基を示し、 R^{30} は脂肪族基を示し、 R^{31} は水素原子、脂肪族基又は芳香族基を示す。

Yは—O—、—S—又は—NR⁴⁰—を示し、ここでR⁴⁰は水素原子、脂肪族基又は芳香族基を示す。

Meはアルカリ金属を示す。）

で表されるアルカリ金属化合物の存在下で重合させる方法が挙げられる。

原料としては、乳酸2分子が脱水縮合したラクチド（3，6—ジメチルー1，4—ジオキササン—2，5—ジオン）を使用し、このラクチドを上記一般式（2）で表されるアルカリ金属化合物の存在下で反応させる。以下、一般式（2）：



について説明する。

一般式（2）において、Rは脂肪族基、芳香族基、—Si(R¹⁰)(R¹¹)(R¹²)、—CH(R²⁰)CONR²¹R²²、又は—CH(R³⁰)COOR³¹を示し、ここでR¹⁰、R¹¹及びR¹²は各々独立に脂肪族基又は芳香族基を示し、R²⁰は脂肪族基を示し、R²¹及びR²²は各々独立に水素原子、脂肪族基又は芳香族基を示し、R³⁰は脂肪族基を示し、R³¹は水素原子、脂肪族基又は芳香族基を示す。

本明細書で言う脂肪族基としては、炭素数1から12、好ましくは1から6の直鎖状、分枝状、環状又はそれらの組み合わせの飽和又は不飽和の脂肪族炭化水素基が挙げられ、具体的には、メチル、エチル、n—プロピル、i—プロピル、n—ブチル、i—ブチル、t—ブチル、オクチル、ドデシル等のアルキル基、シクロプロピル、シクロブチル、シクロオクチル、シクロドデシル等のシクロアルキル基が挙げられる。脂肪族基は二重結合または三重結合を有する不飽和の炭化水素基でもよい。

本明細書で言う芳香族基としては、炭素数は6～30、好ましくは6～20、より好ましくは6～12、さらに好ましくは6～10のアリール基及びアリールアルキル基が挙げられる。アリール基としては、フェニル、トリル、ナフチル等が挙げられ、アリールアルキル基としては、ベンジル、フェネチル、ナフチルメチル等が挙げられる。

脂肪族基および芳香族基は1以上の置換基を有していてもよい。置換基の種類

は特に限定されないが、例えば、直鎖または分岐、鎖状または環状のアルキル基、直鎖または分岐、鎖状または環状のアルケニル基、直鎖または分岐、鎖状または環状のアルキニル基、アリール基、アシルオキシ基、アルコキシカルボニルオキシ基、アリールオキシカルボニルオキシ基、カルバモイルオキシ基、カルボンアミド基、スルホンアミド基、カルバモイル基、スルファモイル基、アルコキシ基、アリールオキシ基、アリールオキシカルボニル基、アルコキシカルボニル基、N-アシルスルファモイル基、N-スルファモイルカルバモイル基、アルキルスルホニル基、アリールスルホニル基、アルコキシカルボニルアミノ基、アリールオキシカルボニルアミノ基、アミノ基、アンモニオ基、シアノ基、ニトロ基、カルボキシ基、ヒドロキシ基、スルホ基、メルカプト基、アルキルスルフィニル基、アリールスルフィニル基、アルキルチオ基、アリールチオ基、ウレイド基、複素環基（例えば、窒素、酸素およびイオウ等を少なくとも1個以上含み、3ないし12員環の単環、縮合環）、複素環オキシ基、複素環チオ基、アシル基、スルファモイルアミノ基、シリル基、ハロゲン原子などが挙げられる。上記においてアルキル、アルケニル、アルキニル及びアルコキシの炭素数は一般的には1から12であり、好ましくは1から6であり、アリールの炭素数は一般的には6から20であり、好ましくは6から10である。

一般式(2)において、Yは-O-、-S-又は-NR⁴⁰-を示し、ここでR⁴⁰は水素原子、脂肪族基又は芳香族基を示す。好ましくは、Yは-O-又は-S-である。R⁴⁰で表される脂肪族基又は芳香族基は上記した通りである。

一般式(2)において、Meはアルカリ金属を示す。アルカリ金属としては、例えば、Li、Na又はKが挙げられ、好ましくはLiである。

一般式(2)で表される化合物で不斉炭素を有するものは、各々(R)体、(S)体、(R)、(S)体の何れでもよい。

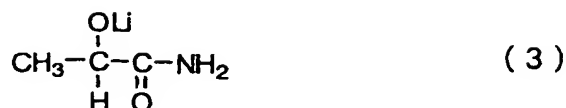
一般式(2)で表されるアルカリ金属化合物の入手方法は特に限定されず、当業者であれば適宜入手でき、例えば、n-ブチルリチウム等のアルキル化アルカリ金属にR-YHを反応させることによって得ることができる。

本発明の方法に従いラクチドを一般式(2)で表されるアルカリ金属化合物の存在下で重合させる場合、アルカリ金属化合物(R-Y-Me)の使用量は、ラクチド1モル当たり好ましくは1~0.1モルであり、より好ましくは0.2~0.3モルである。

上記反応の反応温度は、反応が進行する限り特に限定されないが、好ましくは-100℃~室温であり、より好ましくは-78~-50℃である。反応は-78~-50℃の温度で開始し、徐々に室温にまで昇温させるように実施するのが好ましい。

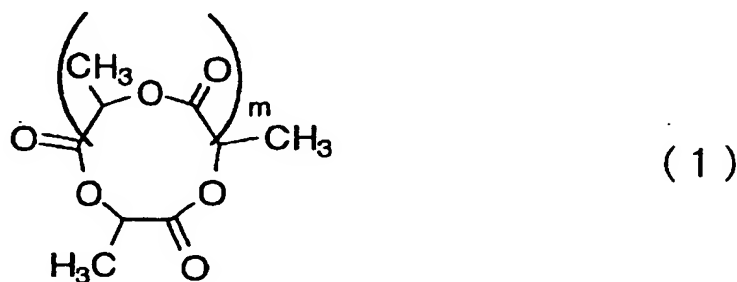
上記した方法におけるラクチドの重合反応は、好ましくは反応溶媒の存在下で実施される。反応溶媒は反応に不活性な溶媒であれば特に制限されないが、好ましくはテトラヒドロフラン等の環状エーテル、ジエチルエーテル、ジメトキシエタン等を用いることができる。反応雰囲気としては、窒素ガスやアルゴンガス等の不活性ガス雰囲気を使用することができる。反応圧力は特に制約されず、好ましくは常圧である。

上記した方法で得られる乳酸オリゴマーの組成は、反応助剤として用いるアルカリ金属化合物によって変化する。アルカリ金属化合物として、例えば、炭素数1~3のアルキルアルコールのアルカリ金属化合物(好ましくはリチウム化合物)を用いる場合には、環状乳酸オリゴマーと鎖状オリゴマーとの混合物(環状乳酸オリゴマーの割合:80~85重量%)が得られる。一方、アルカリ金属化合物としてt-ブチルアルコール等の炭素数4以上のアルキルアルコールのアルカリ金属化合物や、チオフェノール等のアルカリ金属化合物を用いるときには、実質的に環状乳酸オリゴマーのみを選択的に得ることができる。あるいは、アルカリ金属化合物として、一般式(2)においてRが $-CH(R^{20})CONR^{21}R^{22}$ であり、ここで R^{20} は脂肪族基を示し、 R^{21} 及び R^{22} は各々独立に水素原子、脂肪族基又は芳香族基を示す化合物、より具体的には例えば、下記一般式(3):



で表される乳酸アミドを用いることによっても、実質的に環状乳酸オリゴマーのみを選択的に得ることができる。本明細書で言う「実質的に環状乳酸オリゴマーのみを選択的に得る」とは、反応生成物中に鎖状乳酸オリゴマーが実質的に生成しないことを意味し、具体的には、反応生成物中における全乳酸オリゴマーに対する鎖状乳酸オリゴマーの比率が一般的には10重量%以下、好ましくは5重量%以下、特に好ましくは3重量%以下であることを意味する。

上記したような第1の方法及び第2の方法で製造される環状乳酸オリゴマーは以下の化学構造を有することが予想される。



(式中、mは1～30の整数を示す)

上記した方法の反応生成物は、通常、mが1～30、例えば1～28、1～25、1～21、又は1～18等の整数を示す環状乳酸オリゴマーの混合物である。

好ましい実施態様によれば、実質的に鎖状乳酸オリゴマーが生成されることがなく、環状乳酸オリゴマーを選択的に製造することができる。ここで言う「実質的に鎖状乳酸オリゴマーが生成されることがない」とは、反応生成物中における全乳酸オリゴマーに対する環状乳酸オリゴマーの割合が80重量%以上、好ましくは90重量%以上、より好ましくは95重量%以上、特に好ましくは99重量%以上であることを意味する。

本発明の抗腫瘍剤は、上記した製造方法により製造することができる環状ポリ

乳酸を主成分として含むポリ乳酸混合物を有効成分として含む。

本発明で用いるポリ乳酸混合物は、鎖状ポリ乳酸を実質的に含有しないことヶ好ましい。ここで言う「実質的に含有しない」とは、全ポリ乳酸に対する鎖状ポリ乳酸の割合が20重量%以下、好ましくは10重量%以下、より好ましくは5重量%以下、特に好ましくは1重量%以下であることを言う。

(B) 本発明の抗腫瘍剤の製造方法及び使用方法

本発明の抗腫瘍剤は、他の抗腫瘍剤および／または免疫療法剤と併用することもできる。他の抗腫瘍剤としては、マイトマイシン、アドリアマイシン、シスプラチン、ビンデシン、ビンクリスチン、サイクロフォスファミド、イフォマファミド、ブレオマイシン、ペブレオマイシンもしくはエトポシドなどが挙げられる。また他の免疫療法剤としては、微生物もしくは細菌細胞壁骨核成分；免疫活性多糖天然型もしくは遺伝子工学手法で得られるサイトカイン；またはコロニー刺激因子のようなものが挙げられ、上記免疫活性多糖としてはレンチナンもしくはシゾフィラン等が、細菌細胞壁骨核成分としてはムラミルジペプチド誘導体等が、微生物としては乳酸菌等が、また天然型もしくは遺伝子工学手法で得られるサイトカインとしてはインターフェロン等が挙げられる。

本発明の抗腫瘍剤は、前記の成分に加えてさらに必要に応じ、本発明の効果を損なわない範囲内で、医薬品類、医薬部外品類などの製剤に使用される成分や添加剤を任意に選択・併用して製造することができる。本発明の抗腫瘍剤は、単独の医薬品類として使用できる以外に、医薬品類や医薬部外品類などに配合して用いることもできる。

本発明の抗腫瘍剤の形態は特に限定されず、経口投与又は非経口投与用の製剤形態の中から目的に最も適した適宜の形態のものを選択することが可能である。

経口投与に適した製剤形態としては、例えば、錠剤、カプセル剤、散剤、ドリンク剤、顆粒剤、細粒剤、シロップ剤、溶液剤、乳剤、懸濁剤、チュアブル剤などを挙げることができ、非経口投与に適する製剤形態としては、例えば、注射剤

(皮下注射、筋肉内注射、又は静脈内注射など)、外用剤、点滴剤、吸入剤、噴霧剤などが挙げられるが、これらに限定されることはない。

経口投与に適当な液体製剤、例えば、溶液剤、乳剤、又はシロップ剤などは、水、ショ糖、ソルビット、果糖などの糖類、ポリエチレングリコール、プロピレングリコールなどのグリコール類、ごま油、オリーブ油、大豆油などの油類、p-ヒドロキシ安息香酸エステル類などの防腐剤、ストロベリーフレーバー、ペパーミントなどのフレーバー類などを用いて製造することができる。また、カプセル剤、錠剤、散剤、又は顆粒剤などの固体製剤の製造には、乳糖、ブドウ糖、蔗糖、マンニットなどの賦形剤、澱粉、アルギン酸ソーダなどの崩壊剤、ステアリン酸マグネシウム、タルクなどの滑沢剤、ポリビニールアルコール、ヒドロキシプロピルセルロース、ゼラチンなどの結合剤、脂肪酸エステルなどの界面活性剤、グリセリンなどの可塑剤などを用いることができる。

非経口投与に適当な注射用又は点滴用の製剤は、好ましくは、受容者の血液と等張な滅菌水性媒体に有効成分である上記の物質を溶解又は懸濁状態で含んでいる。例えば、注射剤の場合、塩溶液、ブドウ糖溶液、又は塩水とブドウ糖溶液との混合物からなる水性媒体などを用いて溶液を調製することができる。腸内投与のための製剤は、例えば、カカオ脂、水素化脂肪、又は水素化カルボン酸などの担体を用いて調製することができ、座剤として提供される。また、噴霧剤の製造には、有効成分である上記の物質を微細な粒子として分散させることができ、受容者の口腔および気道粘膜を刺激せず、かつ有効成分の吸収を容易ならしめる担体を用いることができる。担体としては、具体的には、乳糖又はグリセリンなどが例示される。有効成分である物質及び使用する担体の性質に応じて、エアロゾル又はドライパウダーなどの形態の製剤が調製可能である。これらの非経口投与用製剤には、グリコール類、油類、フレーバー類、防腐剤、賦形剤、崩壊剤、滑沢剤、結合剤、界面活性剤、可塑剤などから選択される1種又は2種以上の食品を添加することもできる。

本発明の抗腫瘍剤の投与量及び投与回数は、投与の目的、投与形態、摂取者の

年齢、体重又は性別などの条件などを含む種々の要因により適宜設定することができるが、一般的には、有効成分の投与量として一日当り $1 \sim 10,000 \text{ mg} / \text{kg}$ 、好ましくは $10 \sim 2000 \text{ mg} / \text{kg}$ 、より好ましくは $10 \sim 200 \text{ mg} / \text{kg}$ である。上記投与量の製剤を一日 $1 \sim 4$ 回程度に分けて投与することが好ましい。本発明の抗腫瘍剤の投与時期は特に限定されない。

本発明はさらに、上記した縮合度 $3 \sim 20$ の環状ポリ乳酸を主成分として含むポリ乳酸混合物を含む飲食品にも関する。即ち、本発明で用いる縮合度 $3 \sim 20$ の環状のポリ乳酸の混合物は、上記したような単独の製剤の形態で使用するのみならず、飲食品の中に配合して用いることができる。

本発明の飲食品は、ポリ乳酸混合物を分解させることなく配合し得るものであれば、その配合形態には特に制限はない。

本発明の飲食品の製品の具体例としては、清涼飲料、ドリンク剤、健康食品、特定保健用食品、機能性食品、機能活性型食品、栄養補助食品、サプリメント、飼料、飼料添加物などと一般に呼称される、飲料を含む健康食品または補助食品が挙げられる。また、本発明の抗腫瘍剤は、獣医薬、餌飼料等として用いることもできる。

飲食品の具体例としては、例えば、チューインガム、チョコレート、キャンディー、錠菓、ゼリー、クッキー、ビスケット、ヨーグルト等の菓子類、アイスクリーム、氷菓等の冷菓類、茶、清涼飲料（ジュース、コーヒー、ココア等を含む）、栄養ドリンク剤、美容ドリンク剤等の飲料、パン、ハム、スープ、ジャム、スパゲティー、冷凍食品など任意の飲食品を挙げることができる。あるいは、本発明で用いる環状ポリ乳酸混合物は調味料又は食品添加剤などに添加して用いることもできる。本発明の飲食品を摂取することにより抗腫瘍効果が発揮され、実質的に有害な副作用を示さない安全な飲食品を提供することができる。

本発明の飲食品は、ポリ乳酸混合物を、食品に使われる一般的な原料に直接混合、分散したのち、公知の方法により所望の形態に加工することによって得ることができる。

本発明の飲食品はあらゆる形態の飲食品を包含するものであり、その種類は特に制限されず、上記したような各種飲食物、あるいは各種栄養組成物、例えば各種の経口又は経腸栄養剤や飲料等に、本発明の抗腫瘍剤を配合して飲食品として提供することができる。このような飲食品の組成としては、縮合度3～20の環状のポリ乳酸混合物の他に、蛋白質、脂質、糖質、ビタミン及び／又はミネラル類などを含めることができる。飲食品の形態は特に限定されず、摂取しやすい形態であれば、固形、粉末、液体、ゲル状、スラリー状等のいずれであってもよい。

飲食品中におけるポリ乳酸混合物の含有量は特には限定されないが、一般的には0.1～20重量%、より好ましくは0.1～10重量%程度である。

飲食品に含まれるポリ乳酸混合物の量は、本発明の目的とする抗腫瘍作用を発揮できる程度に含まれることが好ましく、好ましくは摂取される飲食物1食中に0.1gから10g程度、より好ましくは0.5gから3g程度である。

以下の実施例により本発明をさらに具体的に説明するが、本発明は実施例によっていかなる点においても限定されることはない。

実施例

合成例1：ポリ乳酸混合物（以下、CPLとも称する）の製造

マントルヒーターに収めたセパラブルフラスコにL-乳酸（D-乳酸も混入しているもの）500mlを入れた。窒素ガス300ml／分の流入及び攪拌を行い、溜出水は保温した下降型接続管を経て還流冷却器付フラスコに導きながら、145℃で3時間加熱した。更に150mmHgに減圧して同温度で3時間加熱した後、3mmHgの減圧下155℃で3時間、最後に3mmHgの減圧下185℃で1.5時間加熱し、反応生成物であるポリ乳酸を得た。

得られたポリ乳酸は100℃に保ち、エタノール100mlに続いてメタノール400mlをそれぞれ加えた後放冷した。これをメタノール500ml中に加え、よく攪拌して静置した後濾過して精製した。その濾液を減圧乾燥してアセトニトリルに溶解し、全量を200ml（原液）とした。

この原液を、予め平衡化した逆相ODSカラム (TSK gel ODS-80TM) にか、0.01M塩酸を含む30%、50%および100%アセトニトリル (pH 2.0) でステップワイズに溶離し、アセトニトリル100%溶出画分であるポリ乳酸 (縮合度3~20) を得た。得られた物質の質量スペクトルを図1に示す。図1中の規則的なフラグメントイオンピークから明らかなように、得られたポリ乳酸の混合物は、環状縮合体と直鎖状縮合体とが混在した状態になっている。

合成例2：環状ポリ乳酸混合物 (以下、AD-3とも称する) の製造

(s) - (+) - 乳酸10.0gを内容積100mlのナス型フラスコに入れ、これをロータリーエバポレータにセットする。フラスコ内の圧力を350~400mmHgに調節し、140℃まで加熱し、同圧力及び同温度で6時間反応を続ける (第1加熱工程)。この反応により生成した副生水はこれを留去した。また、前記反応条件下では、ラクチドは殆んど系外へ留去しなかった。

次に、反応温度を150~160℃に上昇させ、反応圧力を約6時間かけて400mmHgから徐々に下げ、15~20mmHgまで降下させた (降圧速度：1mmHg/分)。この降圧速度の条件では、副生水は留去されたが、ラクチドは殆んど留去されなかった。その後、圧力を15~20mmHgに保ち、6時間反応を継続した (第2加熱工程)。

次に、圧力を30分かけて1~3mmHgにまで下げ、160℃の反応温度で5時間反応を続けた (第3加熱工程)。

前記反応終了後、反応生成物を分析した結果、平均重合度が3~21の環状オリゴマー6.80g (収率85%) が得られた。

合成例2で得られた反応生成物のMSスペクトルを図2に示す。また、合成例2で得られた反応生成物のNMRの全体図を図3に、図3の一部分の拡大図を図4及び図5に示す。

実施例1：

(A) 材料と方法

(1) 実験動物と腫瘍細胞の移植

6週齢のマウス (C57BL/6N) の右大腿部皮下に 1.0×10^4 個のルイス肺癌細胞を移植した。

(2) 被検物質の投与

マウスを、対照群(溶媒投与群)、AD-3 (合成例2で調製したもの) 投与群(本発明) および CPL (合成例1で調製したもの) 投与群(比較例) に分けた。AD-3 投与群とCPL投与群は、各個体に投与する1回あたりの量に応じて4群、つまり0.2mg、0.4mg、1.0mg および4.0mg 投与群、に分けた。

移植2日後から溶媒投与群AD-3投与群およびCPL投与群には、溶媒(グリセリンとプロピレングリコールの混合液)、溶媒に懸濁したAD-3、あるいはCPLの腹腔内投与を開始し、投与開始後、17~19日目に安楽死させるまで隔日投与を継続した。

(3) 移植組織の採取と計測：

深麻酔後、開胸して左心室からPBSを還流した。その後、移植した腫瘍組織を摘出し、直径・短径および厚さを計測するとともに重量を測った。腫瘍組織は、表層の腫瘍細胞が密集する腫瘍細胞層と深部で血液が充満する海綿状の組織に分かれていた。そこで重量を計測した後、海綿状組織を取り除き、表層の腫瘍細胞層の重量を測定した。

(4) 肺転移コロニーの観察：

両肺を摘出した後、各葉表面に存在する転移コロニーの数を計測した。

(5) 移植組織の組織像：

組織学的手法に従って腫瘍組織の組織切片を作製し、H・E染色を施して検鏡した。

(B) 結果とまとめ

結果を図6から図8に示す。

(1) 腫瘍組織

CPL 群における腫瘍組織重量は、0.4mg 投与群では対照群よりも増加したが、その他の投与量群では変化がなかった。これに対し、AD3 投与群では 1.0mg 投与群で約 65%に減少するなど CPL 群に比べ腫瘍抑制効果は顕著であった(図 6 及び 7)。

(2) 腫瘍組織像

組織切片を観察した結果、AD3 投与群では実質性組織と海綿状組織の境界領域、あるいは実質性組織内部に多数の好中球の浸潤が認められた。実質性組織内の好中球は、毛細血管周辺に認められた。また、この AD3 群における好中球の浸潤は、CPL 投与群に比べると圧倒的な領域で認められ、その差は顕著であった。また、この浸潤は AD3 群でも最も腫瘍縮小効果が認められた 1.0mg 投与群で顕著であり、腫瘍縮小効果との関連性も示唆される。

(3) 肺転移コロニー

AD-3 投与群の転移コロニーの数は、対照群や CPL 群に比べると少ないことがわかった。中でも 1.0mg 投与群では、対照群の約 1/3 程度であった。これらの観察結果から、移植腫瘍組織の増殖と転移の抑制効果は、選択的環状乳酸オリゴマーである AD3 の方が有効であり、その効果は 1.0mg 投与群で最も顕著であった(図 8)。

(4) まとめ

選択的環状乳酸オリゴマー合成法で得られた AD-3 の抗腫瘍効果を従来の加熱縮合法による CPL と比較した。投与量を変えて検討した結果、AD-3 の腫瘍縮小効果、および転移抑制効果は CPL よりも優れていることが明らかになった。

また、AD-3 によって、腫瘍組織内において血行性に好中球の浸潤が認められた。AD-3 ならびに CPL の抗腫瘍効果の要因が、嫌氣的解糖系が抑制に基づいていることは既に示唆されているが、今回の結果は、環状乳酸オリゴマーには嫌氣的解糖系の抑制による抗腫瘍効果のほかに免疫系を介しての腫瘍抑制効果があることが示唆された。

AD-3 投与群の中では、1.0mg 投与群で顕著な効果が認められた。従来、CPL

の腹腔投与では、4mg で効果が認められていたことから至適濃度の違いも明らかになった。

実施例 2 :

(A) 材料と方法

(1) 実験動物と腫瘍細胞の移植

6 週齢のマウス (C57BL/6N) 31 匹の右大腿部皮下に 1.0×10^4 個のルイス肺癌細胞を移植した。

(2) 環状ポリ乳酸混合物の投与

移植 2 日後、マウスを無処置群と AD-3 (合成例 2 で合成したもの) 投与群 (0.1mg、0.25mg、0.5mg および 1.0mg 投与群) に分けた。AD-3 投与群には隔日に溶媒(プロピレングリコール)に懸濁した AD-3 を腹腔投与し、投与開始後 16 日目に安楽死させた。

(3) 移植組織の採取と計測

深麻酔後、開胸して左心室から PBS を還流した。その後、移植した腫瘍組織を摘出し、長径・短径および厚さおよび重量を測った。腫瘍組織は、表層で腫瘍細胞が密集する領域(実質性組織)と深部で血液が充満する海綿状の組織に分かれていた。そこで重量を計測した後、海綿状組織を除去し、表層の実質性組織の重量を測定した。

(4) 嫌気性解糖系の酵素活性

海綿状組織を取り除いた実質性組織(腫瘍組織)と肺組織でヘキソキナーゼ(HK)、ホスフォルクトキナーゼ(PFK)、ピルビン酸キナーゼ(PK) および乳酸脱水素酵素(LDH)を測定した。

(5) 肺転移コロニーの観察

両肺を摘出した後、各葉表面に存在する転移コロニーを特大・大・中および小の 4 段階に分類し、その数を計測した。

(6) 組織学的検討

腫瘍組織を組織学的方法に従って固定した後、親水性メタクリル樹脂に包埋し、薄切した切片に H-E 染色を施して観察した。

(B) 結果とまとめ

(1) 腫瘍組織重量

各群の腫瘍組織の重量は、表 1 に示す。また、それぞれの群における実質性組織と海綿状組織の割合は図 9 にまとめた。図 10 では、対照群の重量を 100 にした場合の投与群の腫瘍重量、実質性組織重量および海綿状組織重量を表した。

表 1 :

腫瘍組織重量の比較

	腫瘍全体の重量(g)	実質性組織重量(g)	腫瘍全体に占める 実質性組織の割合
対照群(n=7)	2.25±0.73 ^{a)}	2.22±0.80	0.88
0.1mg 投与群(n=6)	2.67±0.70	1.94±0.59	0.73
0.25mg 投与群(n=5)	2.01±0.37	1.39±0.30	0.69
0.5mg 投与群(n=6)	1.85±0.86	1.28±0.61 ^{b)}	0.69
1.0mg 投与群(n=6)	1.71±0.24 ^{b)}	1.08±0.15 ^{c)}	0.63

a): mean±SD b): p<0.05 c): p<0.01

その結果、投与量の増加に従って腫瘍組織全体と実質性組織重量の減少が認められ、実質性組織が腫瘍全体に占める割合も減少傾向を示した。また、AD-3 投与群は、いずれも海綿状組織の重量が対照群に比べ約 200%前後で推移し、明らかに増加していることが認められた。

(2) 嫌氣的解糖系の酵素活性

各群の腫瘍組織において、嫌氣的解糖系の酵素活性を測定した結果、0.1mg、0.25mg、および 0.5mg 投与群で酵素活性の有意な低下が認められた(表 2)。しかしながら、肺組織で HK・PFK・PK および LDH 活性を測定したところいずれの投与群でも対照群と比べて有意な差は認められなかった。

表 2 :

腫瘍組織の酵素活性の比較

	酵素活性(mU/mg protein)			
	HK	PFK	PK	LDH
対照群(n=7)	97.1±9.8 ^{a)}	122.2±19.9	1021±128	6548±689
0.1mg 投与群(n=6)	77.5±22.8	79.7±23.1 ^{b)}	641±204 ^{c)}	5415±1249
0.25mg 投与群(n=5)	68.7±14.8 ^{c)}	73.5±7.3 ^{d)}	638±193 ^{c)}	4963±983 ^{c)}
0.5mg 投与群(n=6)	80.1±15.1 ^{b)}	84.1±18.3 ^{b)}	771±90 ^{c)}	5440±543 ^{c)}
1.0mg 投与群(n=6)	85.2±10.0	88.7±18.8	904±137	5816±723

a): mean±SD b): p<0.05 c): p<0.01 d): p<0.01

(3) 腫瘍組織の組織学的観察

組織切片を検鏡した結果、実質性組織には、細胞分裂像を含む腫瘍細胞の集団が認められた。また、海綿状組織は細胞の壊死像で占められ好中球などの浸潤が認められた。両者の境界域には、膨化した空胞を多数含む細胞が観察された。

(4) まとめ

AD-3 の抗腫瘍作用について検討した結果、移植した腫瘍組織の縮小、壊死した癌細胞が占める割合の増加、および嫌氣的解糖系の抑制効果が認められた。

CPL を含むこれまでの物質による研究では、発癌や移植癌組織の増殖が抑制され、この現象が癌細胞の嫌氣的解糖系の抑制と密接に関連していることが明らかになっている。今回の実験では、従来報告されているものよりもさらに低用量の投与によって、抗腫瘍効果を認めた。また、腫瘍組織内の細胞壊死の領域(海綿状組織)の増加が観察され、細胞壊死の進行が加速していることも示唆された。この現象は、腫瘍の大きさや重量に有意差がない0.25mg や0.5mg 投与群の場合でも認められた。これらの群では、嫌氣的解糖系は抑制されており、腫瘍組織の活性は低下していると考えられ、このような腫瘍内の海綿状組織の増加は、CPL の抗腫瘍作用の重要な指標となる。

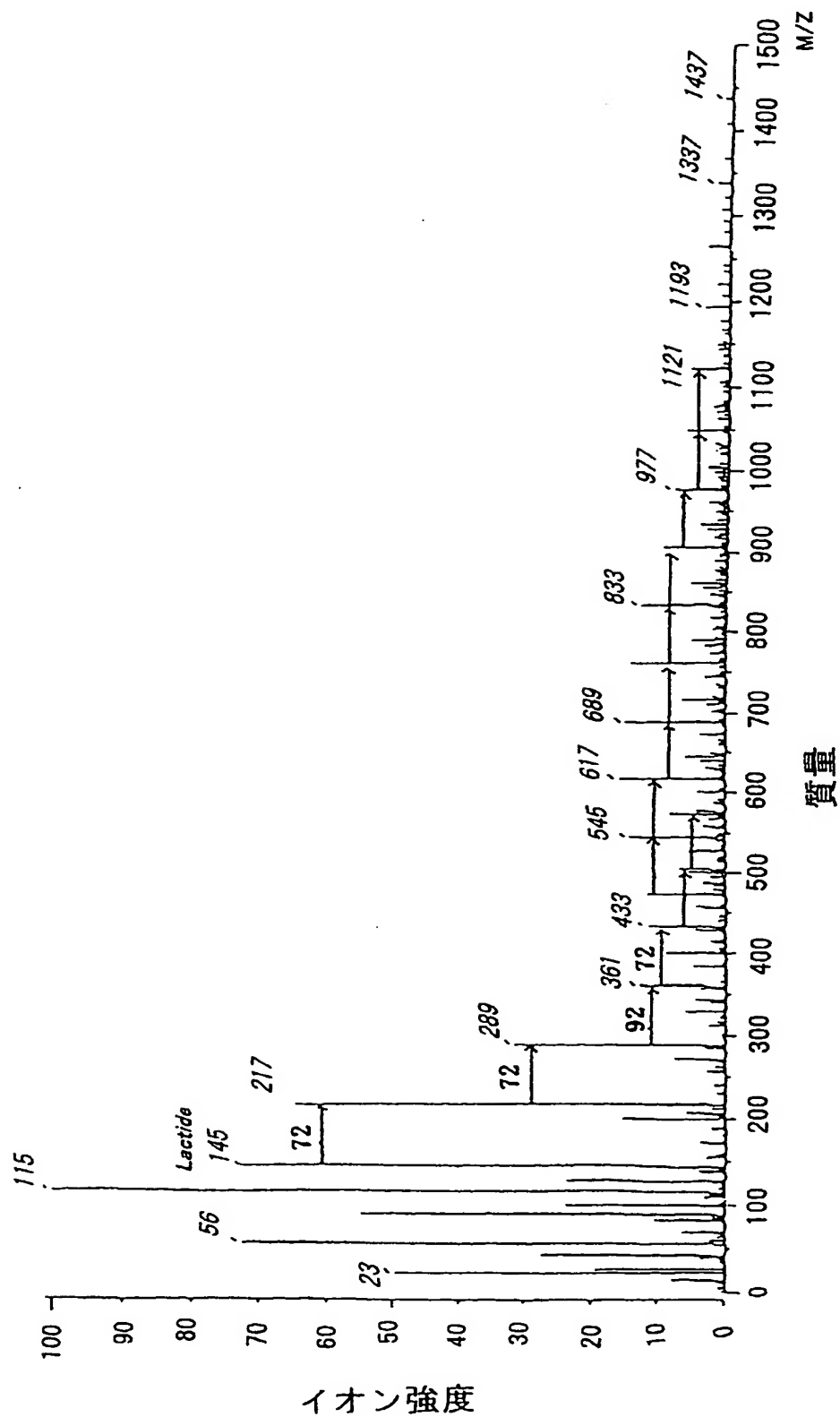
産業上の利用の可能性

本発明により、新規な抗腫瘍剤、並びにそれを利用した飲食品を提供することが可能になった。本発明の抗腫瘍剤は低用量でも十分な抗腫瘍効果を発揮できる。また、本発明において有効成分として用いられるポリ乳酸混合物は、生体成分に由来する乳酸の低縮合体であることから、生体適合性が高く、副作用が少ない。

請求の範囲

1. 縮合度 3 ～ 20 の環状ポリ乳酸を主成分として含むポリ乳酸混合物を含む、抗腫瘍剤。
2. ポリ乳酸混合物が鎖状ポリ乳酸を実質的に含有しないことを特徴とする、請求項 1 に記載の抗腫瘍剤。
3. 縮合度 3 ～ 20 の環状ポリ乳酸を主成分として含むポリ乳酸混合物が、
(i) 乳酸を加熱により脱水縮合する工程であって、ラクチドの留出を回避しつつ副生水を留出除去するような圧力及び温度条件下で脱水縮合する第 1 加熱工程；及び
(ii) 該第 1 加熱工程の反応生成物を、第 1 加熱工程より高い温度において、ラクチドの留出を回避しつつ副生水を留出除去するような圧力及び温度条件下で圧力を 100 mmHg 以下まで降下させ、該降下した圧力において加熱下においてさらに反応を継続して乳酸の脱水縮合物を生成させる第 2 加熱工程；
を含む製造方法により製造されるポリ乳酸混合物である、請求項 1 又は 2 に記載の抗腫瘍剤。
4. 請求項 1 から 3 の何れかに記載の抗腫瘍剤を含む、飲食品。

図 1



2

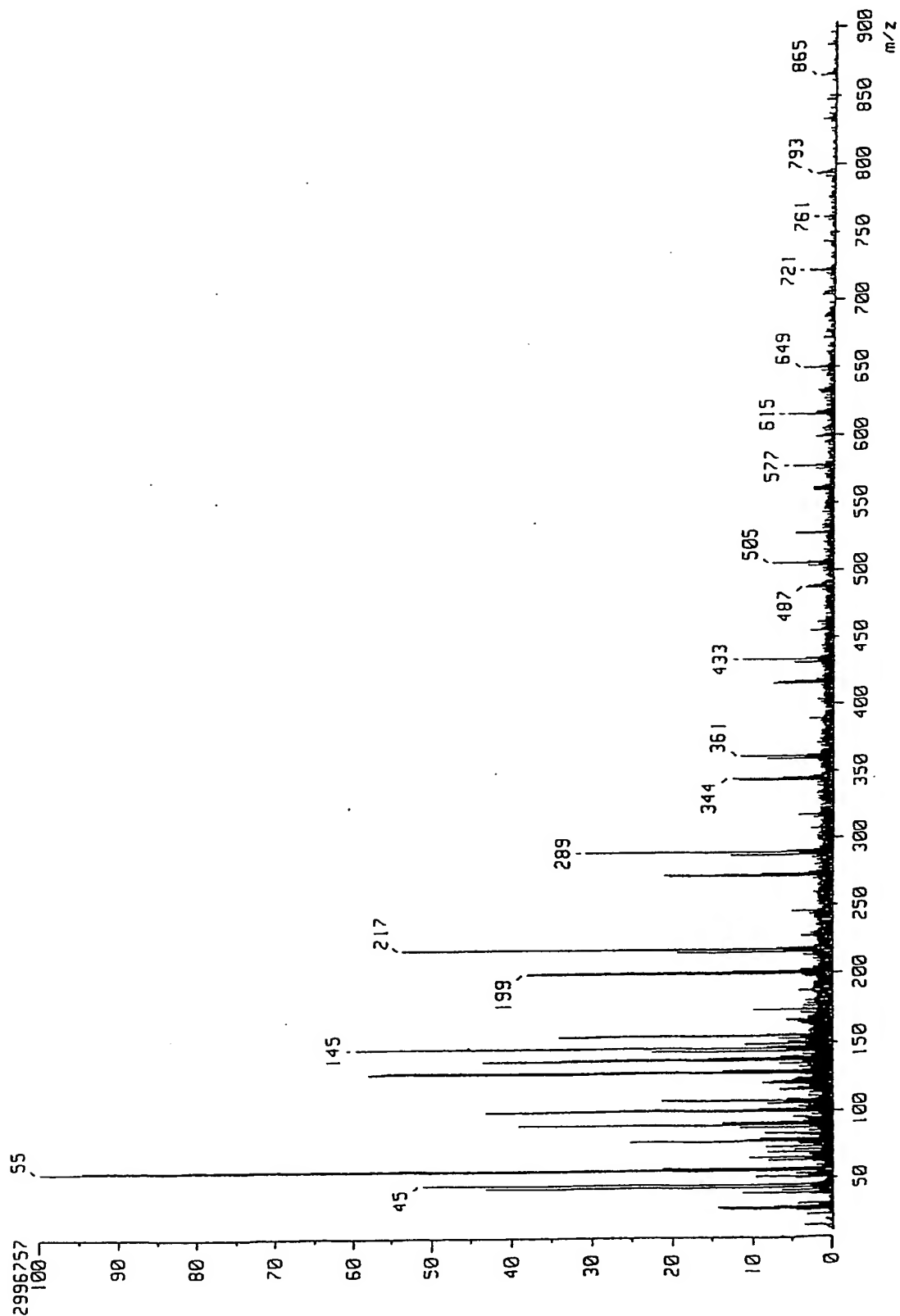
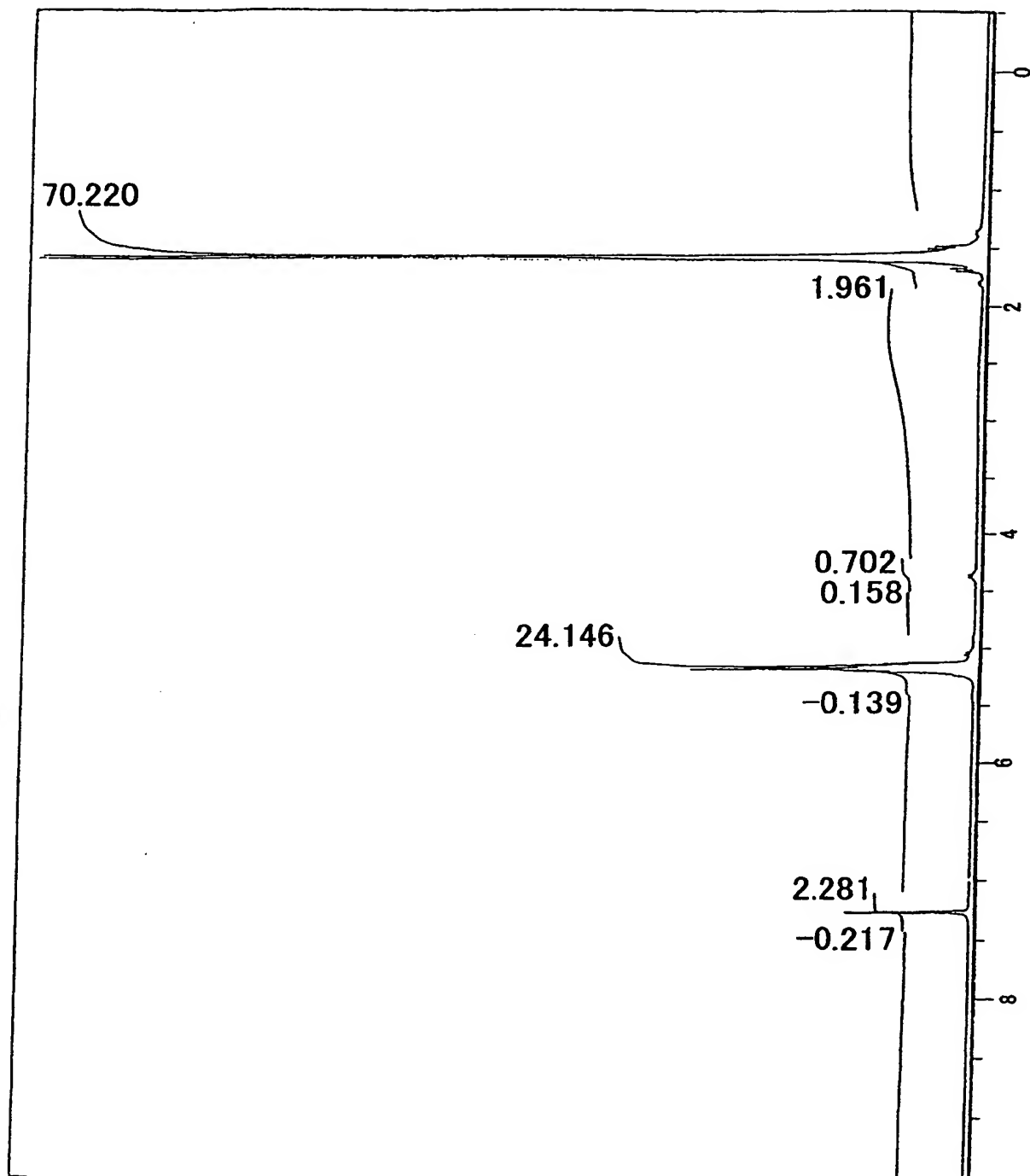


図 3



☒ 4

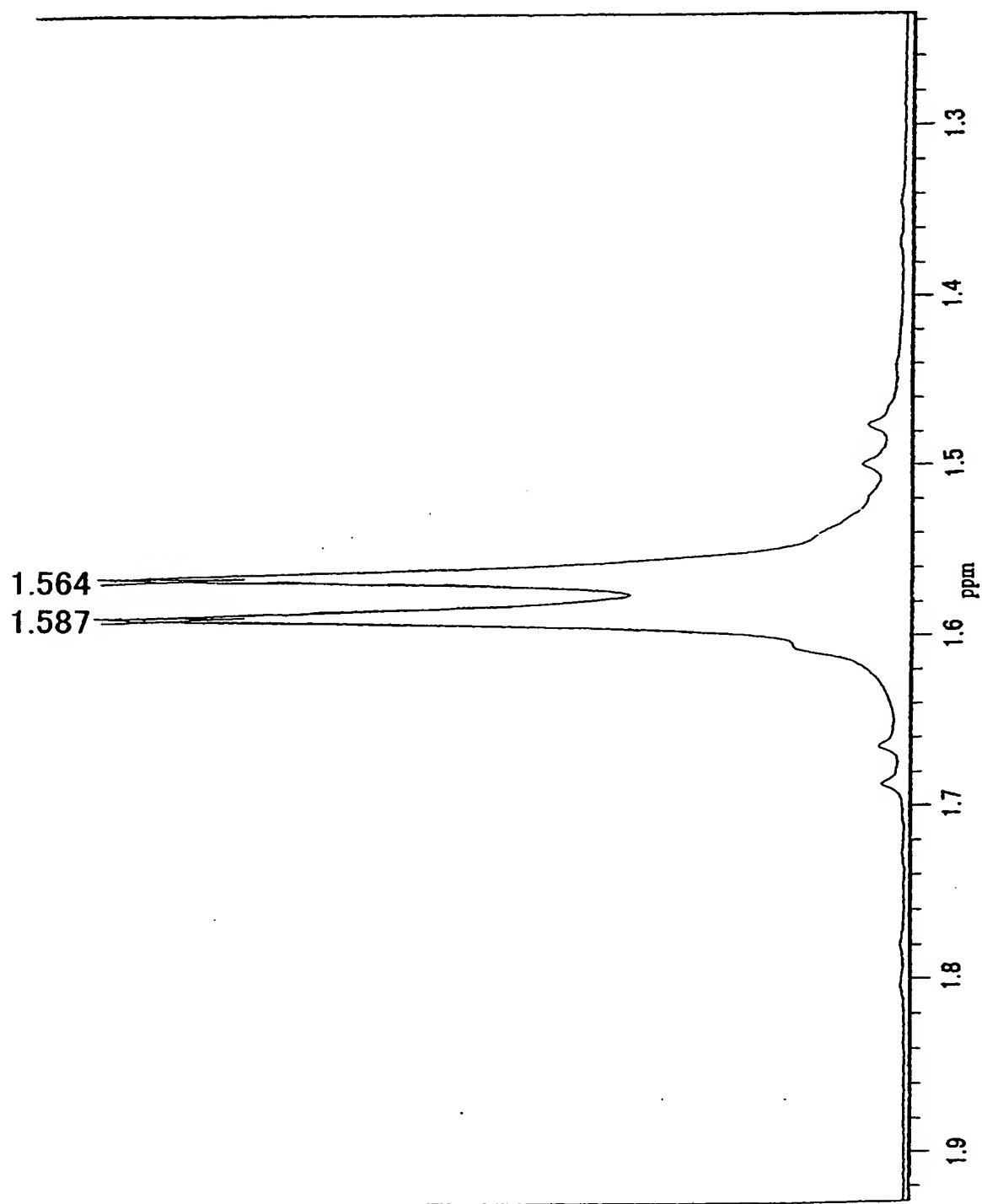


図 5

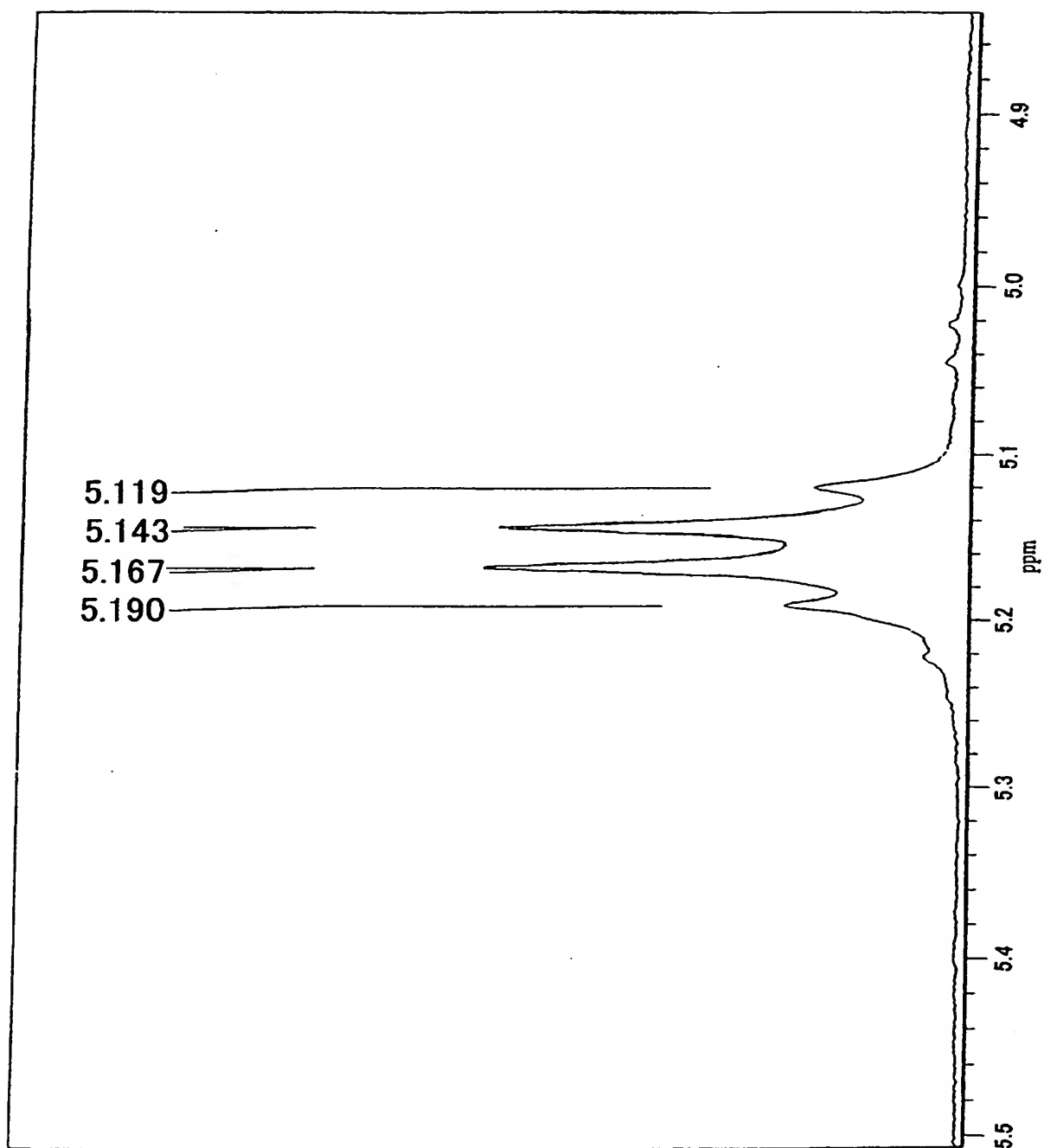


図 6

腫瘍組織重量の比較

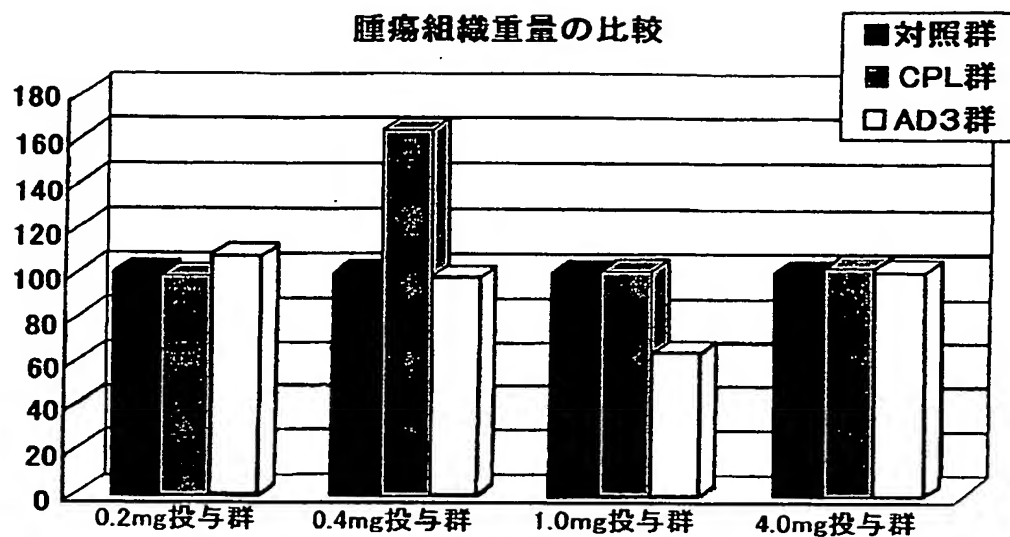


図 7

AD3投与群における腫瘍組織(実質性組織・海綿状組織)重量

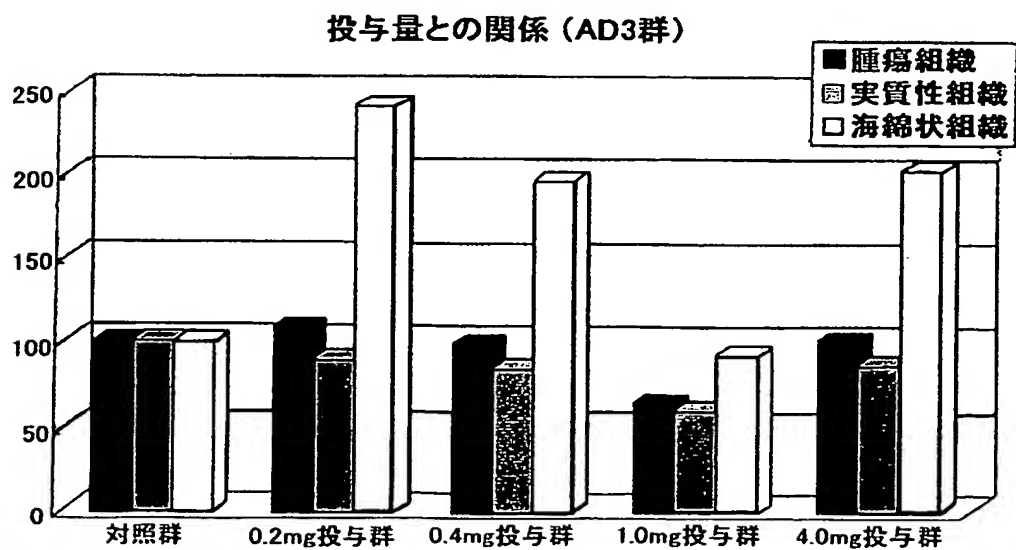


図 8

AD3投与群における肺転移コロニーの数

肺転移コロニーの比較(AD3群)

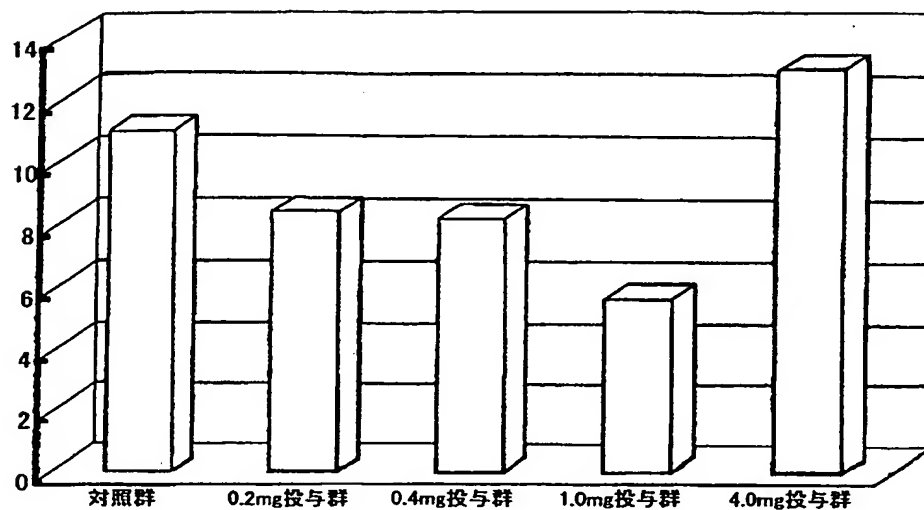


図 9

実質性組織と海綿状組織の割合

腫瘍組織の割合の比較

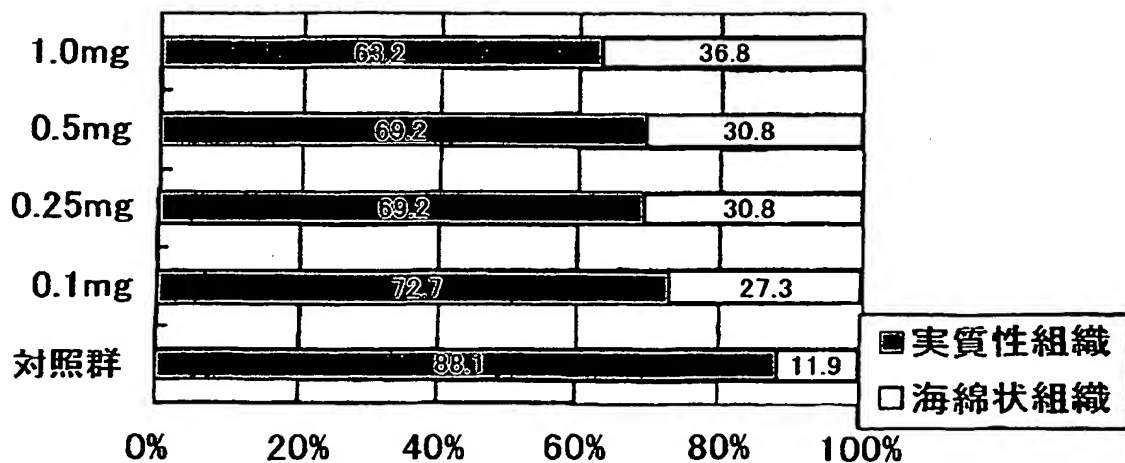
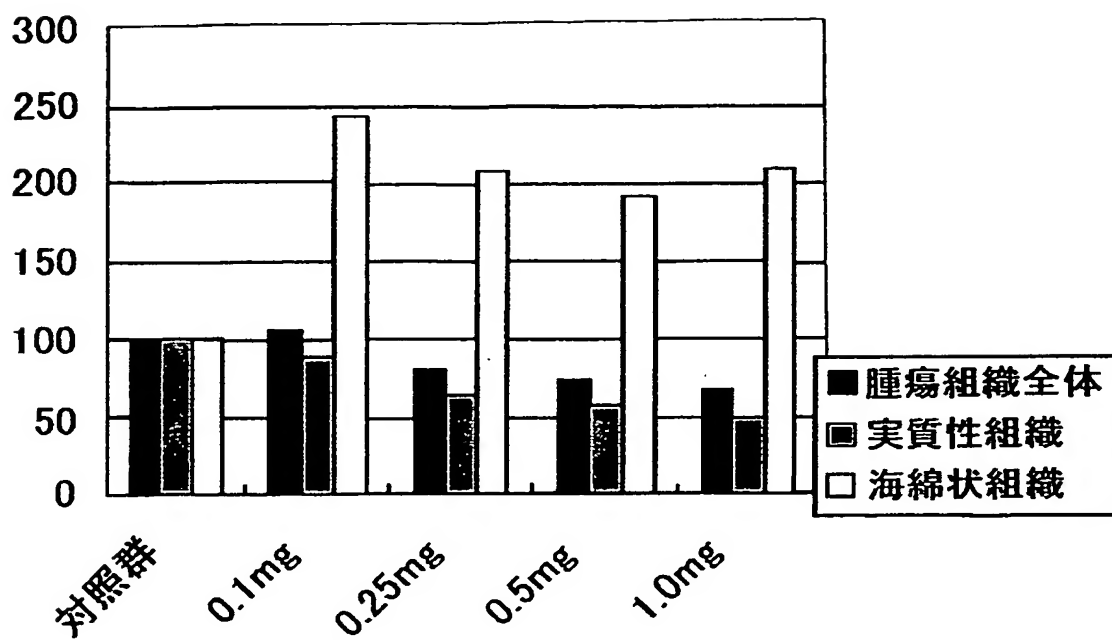


図 10

各組織重量の比較



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 International application No.
 PCT/JP02/07258

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ A61K31/335, 31/765, A61P35/00//C07D323/00, C08G63/06

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ A61K31/335, 31/765, A61P35/00//C07D323/00, C08G63/06

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

 Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
 CAPLUS (STN), MEDLINE (STN), EMBASE (STN), BIOSIS (STN), JICST (JOIS)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 2001-139476 A (Amato Pharmaceutical Products Ltd.), Full text & EP 1103263 A2 & EP 1103263 A3 & CN 1296818 A	1-4
X	JP 7-233061 A (Global Art Kabushiki Kaisha), 05 September, 1995 (05.09.95), Full text (Family: none)	1-4
X	JP 10-130153 A (Kabushiki Kaisha Shumeido), 19 May, 1998 (19.05.98), Abstract; claims; Par. Nos. [0013], [0038] (Family: none)	1-4

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
10 October, 2002 (10.10.02)Date of mailing of the international search report
29 October, 2002 (29.10.02)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP02/07258

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 2000-239171 A (Tokai Education Instruments Co., Ltd.), 05 September, 2000 (05.09.00), Abstrac; claims; Par. Nos. [0007], [0009] to [0014] (Family: none)	1-4
X	JP 9-227388 A (Tetsuaki NAGANUSHI), 02 September, 1997 (02.09.97), Abstract; claims; Par. Nos. [0013], [0039] (Family: none)	1-4
X	JP 6-336427 A (Global Art Kabushiki Kaisha), 06 December, 1994 (06.12.94), Abstract; claims; Par. Nos. [0017], [0040] (Family: none)	1-4
X	JP 5-310581 A (Koken Kabushiki Kaisha), 22 November, 1993 (22.11.93), Abstract; claims; Par. Nos. [0017], [0040] (Family: none)	1-4
X A	Yasukazu NAGATO et al., "Kenkiteki Kaitokei Yokusei Busshitsu, Kanjo-Poly-Nyusan (CPL) no Koshuyo Sayo - (Dai 1-Po) Keiko Toyo ni yoru Mouse Hatsugan Yokusei no Kento", Journal of Traditional Medicine, 1998, Vol.15, No.5, pages 338 to 339, particularly, page 338, left column, line 15 to right column, line 6	1,2 3,4
X A	Shigeo TAKADA et al., "Ruisu Solid Carcinoma no zoshoku oyobi Hai e no Ten'i ni Oyobosu Kanjo- Poly-Nyusan no Koka no Kento", The Journal of Japan Society for Cancer Therapy, 1998, Vol.33, No.3, page 196(222), GP257	1,2 3,4
X A	Yasukazu NAGATO et al., "Kanjo-Poly-Nyusan (CPL) Toyo ni yoru Mouse Shizen Hassei Gan no Hatsugan Koka no Kento", The Journal of Japan Society for Cancer Therapy, 1998, Vol.33, No.3, page 196(222), GP258	1,2 3,4
X A	Yoichiro NGANUSHI et al., "Usagi Kanzo ni Ishokushita VX2 Gan ni Taisuru Kanjo-Poly-Nyusan (CPL) no Koka", Medicine and Biology, 1997, Vol.135, No.5, pages 235 to 239, full text	1,2 3,4
X A	TAKEDA, Shigeo et al., "Effect of Cyclic Polylactate on Tumor Cells and Tumor Bearing Mice", Biochemistry and Molecular Biology International, 1997, Vol.43, No.1, pp.9 to 17, full text	1,2 3,4

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP02/07258

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X A	Shigeo TAKADA et al., "Baiyo Hito Gansaibo ni Oyobosu Kanjo-Poly-Nyusan no Koka", Medicine and Biology, 1997, Vol.135, No.3, pages 89 to 92, full text	1,2 3,4
X A	Yoichiro NGANUSHI et al., "Tangan Dobutsu (Yoshida Nikushu Ishoku Rat) ni Taisuru Kanjo-Poly-Nyusan (CPL) Jomyaku Toyo no Koka", Medicine and Biology, 1997, Vol.135, No.1, pages 33 to 36, full text	1,2 3,4
X A	Yasukazu NAGATO et al., "Kanjo-Poly-Nyusan (CPL) no Mouse Fukusui Shuyo Saibo (FM3A Saibo) ni Taisuru Koka", Medicine and Biology, 1997, Vol.134, No.2, pages 45 to 48, full text	1,2 3,4
X A	Yasukazu NAGATO et al., "Kanjo-Poly-Nyusan (CPL) ni yoru Ishoku Shuyo Saibo no Keitai Henka", Medicine and Biology, 1997, Vol.134, No.4, pages 135 to 139, full text	1,2 3,4
X A	Yasukazu NAGATO et al., "Fukusui Gansaibo no Zoshoku to Tangan Mouse no Enmei ni Oyobosu Kanjo-Poly-Nyusan no Koka", Medicine and Biology, 1997, Vol.134, No.3, pages 93 to 96, full text	1,2 3,4
P,X	WO 01/54705 A1 (Amato Pharmaceutical Products Ltd.), 02 August, 2001 (02.08.01), Particularly, claims; abstract; page 9, line 21 to page 11, line 20; page 14, line 24 to page 15, line 14 (Family: none)	1-4
A	JP 2000-72680 A (Kabushiki Kaisha Shumeido), 07 March, 2000 (07.03.00), (Family: none)	1-4
A	WO 01/39782 A1 (Amato Pharmaceutical Products Ltd.), 07 June, 2001 (07.06.01), & EP 1234577 A1 & AU 2001015543 A5	1-4
A	WO 01/21182 A1 (Amato Pharmaceutical Products Ltd.), 29 March, 2001 (29.03.01), & EP 1224936 A1 & AU 2000073168 A5	1-4
A	WO 01/10451 A1 (Amato Pharmaceutical Products Ltd.), 15 February, 2001 (15.02.01), & EP 1213021 A1	1-4

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl¹ A61K31/335, 31/765, A61P35/00 // C07D323/00, C08G63/06

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl¹ A61K31/335, 31/765, A61P35/00 // C07D323/00, C08G63/06

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CAPLUS(STN), MEDLINE(STN), EMBSE(STN), BIOSIS(STN), JICST(JOIS)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	JP 2001-139476 A (天藤製薬株式会社) 2001.05.22 文献全体 & EP 1103263 A2 & EP 1103263 A3 & CN 1296818 A	1-4
X	JP 7-233061 A (グローバルアート株式会社) 1995.09.05 文献全体 (ファミリーなし)	1-4

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

10.10.02

国際調査報告の発送日

29.10.02

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

須賀下 浩一

4C 9284

電話番号 03-3581-1101 内線 3452

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	JP 10-130153 A (株式会社主命堂) 1998.05.19 【要約】、【特許請求の範囲】、【0013】、【0038】 (ファミリーなし)	1-4
X	JP 2000-239171 A (東海教育産業株式会社) 2000.09.05 【要約】、【特許請求の範囲】、【0007】、【0009】 - 【0014】 (ファミリーなし)	1-4
X	JP 9-227388 A (長主 哲明) 1997.09.02 【要約】、【特許請求の範囲】、【0013】、【0039】 (ファミリーなし)	1-4
X	JP 6-336427 A (グローバルアート株式会社) 1994.12.06 【要約】、【特許請求の範囲】、【0017】、【0040】 (ファミリーなし)	1-4
X	JP 5-310581 A (興研株式会社) 1993.11.22 【要約】、【特許請求の範囲】、【0017】、【0040】 (ファミリーなし)	1-4
X A	長戸 康和 等、嫌氣的解糖系抑制物質、環状ポリ乳酸 (CPL) の抗腫瘍作用 - (第1報) 経口投与によるマウス発癌抑制の検討、 和漢医薬学雑誌、1998年、第15巻、第5号、第338-339ページ、特 に、第338ページ 左欄第15行-右欄第6行	1, 2 3, 4
X A	高田 繁生 等、ルイス固形癌の増殖及び肺への転移に及ぼす環状 ポリ乳酸の効果の検討、日本癌治療学会誌、1998年、第33巻、第3 号、196(222)ページ、GP257	1, 2 3, 4
X A	長戸 康和 等、環状ポリ乳酸 (CPL) 投与によるマウス自然発 生癌の発癌効果の検討、日本癌治療学会誌、1998年、第33巻、第3 号、196(222)ページ、GP258	1, 2 3, 4
X A	長主 陽一郎 等、ウサギ肝臓に移植したVX2癌に対する環状ポ リ乳酸 (CPL) の効果、医学と生物学、1997年、第135巻、第5 号、第235-239ページ、文献全体	1, 2 3, 4
X A	TAKADA, Shigeo et al, EFFECT OF CYCLIC POLYLACTATE ON TUMOR CELLS AND TUMOR BEARING MICE., BIOCHEMISTRY and MOLECULAR BIOLOGY INTERNATIONAL, 1997, Vol.43, No.1, pp.9-17, 文献全体	1, 2 3, 4

C (続き). 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X A	高田 繁生 等、培養ヒト癌細胞に及ぼす環状ポリ乳酸の効果、医学と生物学、1997年、第135巻、第3号、第89-92ページ、文献全体	1, 2 3, 4
X A	長主 陽一郎 等、担癌動物（吉田肉腫移植ラット）に対する環状ポリ乳酸（CPL）静脈投与の効果、医学と生物学、1997年、第135巻、第1号、第33-36ページ、文献全体	1, 2 3, 4
X A	長戸 康和 等、環状ポリ乳酸（CPL）のマウス腹水腫瘍細胞（FM3A 細胞）に対する効果、医学と生物学、1997年、第134巻、第2号、第45-48ページ、文献全体	1, 2 3, 4
X A	長戸 康和 等、環状ポリ乳酸（CPL）による移植腫瘍細胞の形態変化、医学と生物学、1997年、第134巻、第4号、第135-139ページ、文献全体	1, 2 3, 4
X A	長戸 康和 等、腹水癌細胞の増殖と担癌マウスの延命に及ぼす環状ポリ乳酸の効果、医学と生物学、1997年、第134巻、第3号、第93-96ページ、文献全体	1, 2 3, 4
P X	WO 01/54705 A1（天藤製薬株式会社）2001.08.02 特に、請求の範囲、要約、第9ページ 第21行-第11ページ 第20行、第14ページ 第24行-第15ページ 第14行 （ファミリーなし）	1-4
A	JP 2000-72680 A（株式会社主命堂）2000.03.07 （ファミリーなし）	1-4
A	WO 01/39782 A1（天藤製薬株式会社）2001.06.07 & EP 1234577 A1 & AU 2001015543 A5	1-4
A	WO 01/21182 A1（天藤製薬株式会社）2001.03.29 & EP 1224936 A1 & AU 2000073168 A5	1-4
A	WO 01/10451 A1（天藤製薬株式会社）2001.02.15 & EP 1213021 A1	1-4